

牛体外受精由来胚の品質評価に関する研究～移植による個体発生能と後代能との関係～

| | |
|-----|---|
| 著者 | 高田 直和 |
| 号 | 545 |
| 発行年 | 1995 |
| URL | http://hdl.handle.net/10097/15965 |

氏 名(本籍) たか高 だ田 なお直 かず和

学 位 の 種 類 博 士 (農 学)

学 位 記 番 号 農 第 5 4 5 号

学位授与年月日 平 成 8 年 2 月 8 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学 位 論 文 題 目 牛体外受精由来胚の品質評価に関する研究
～移植による個体発生能と後代能力との
関係～

論文審査委員(主 査) 教 授 菅 原 七 郎
教 授 山 岸 敏 宏
教 授 鈴 木 惇

論文内容要旨

第1章 緒言

牛の胚移植技術は、新たな繁殖技術として着実に農家に普及定着してきており、わが国では、肉用牛の増殖、特に黒毛和種の増殖に利用されてきた。この技術はコストが高くつくと言う欠点があったが、従来、食肉処理場で廃棄されていた卵巣内卵子を用いた体外受精技術によって、低コストで大量に移植可能な胚を生産することが可能であるという報告がなされ注目をあびている。本技術は、胚移植のコストを下げたばかりでなく、繁殖生理の研究、クローニングおよび遺伝子注入技術開発の材料確保に役立つほか、過剰排卵処理に対して反応しない牛の卵巣から未成熟卵を回収して移植可能胚を体外で生産したり、産肉能力間接検定材料牛確保の労力を軽減できる等、学術研究に貢献するとともに、胚移植技術の畜産業における応用範囲を広げた。

しかし、体外受精によって生産された胚は、生体から回収された胚と形態や生存性が異なることが知られており、体外受精由来胚の品質について正確に把握する必要があると指摘されている。胚の品質の最終的な評価は、子畜の生産性と成体になってからの各種能力によって評価されるべきであるが、これらの検討を行って胚の品質を評価した報告はない。また近年、胚の凍結保存や性判別を目的としたバイオブシー、核移植などの胚操作技術が開発されているが、体外受精由来胚にこれらの技術を応用した場合、生体から回収した胚とどのように異なるのか、子畜の生産性によって比較、検討した報告はない。そこで本研究では、1)体外受精由来胚の発生率、細胞数、受胎率および子牛の生産成績、2)体外受精由来胚の凍結保存と融解後移植における受胎率と子牛の生産成績、3)体外受精由来胚のバイオブシー後の発生率および移植後の受胎率と子牛の生産成績、4)核移植におけるドナー細胞としての体外受精由来胚の品質評価、5)体外受精由来胚から生産された子牛の発育、産肉能力および繁殖能力のすべてについて生体内由来胚の成績と比較検討し、体外受精由来胚の品質を総合的に評価した。

第2章 牛体外受精由来胚の発生率、細胞数、受胎率および子牛の生産成績

- 1) 卵丘細胞を用いた共培養系における牛体外受精由来胚の発生率に及ぼす血清の種類と濃度、培養液の浸透圧、種雄牛個体差および共培養細胞の影響

体外培養系における胚の発生率に培養環境が及ぼす影響について検討した。

(1) 発生培地に4種類の血清を添加して胚の発生率を比較したところ、発情期雌牛血清区の胚盤胞率(22.3%)は供卵牛(10.3%)および牛胎児血清区(10.2%)よりも有意に高く、子牛血清区(13.8%)よりも高い傾向にあった。発情期雌牛血清を1および10%濃度で添加したところ、10%区における胚盤胞率(22.6%)は1%区(15.9%)よりも高い傾向にあった。

(2) 3種類の浸透圧に調整した発生培地を用いて胚盤胞率を比較したところ、270 mOsm(16.1%)および300mOsm区(17.4%)の胚盤胞率は240mOsm区(5.5%)よりも有意に高かった。

(3) 3種類の種雄牛を用いて体外受精を行い胚盤胞率を比較したところ、種雄牛Bにおける胚盤胞率(23.1%)はA(14.6%)およびC(12.7%)よりも有意に高かった。

(4) 共培養細胞の存在の有無が胚の発育に及ぼす影響を調べるため媒精72時間の8-16細胞期胚を卵丘細胞と接触あるいは接触させずに、また培養液のみで培養(非共培養)したところ、非共培養区における胚盤胞期胚への発育率(7.4~9.2%)は接触区(32.9~36.9%)および非接触区のそれ(25.7~44.1%)よりも有意に低かった。

2) 体外受精由来胚の細胞数の検討

媒精後5日の体外受精由来胚の細胞数は人工授精後5日の生体内由来胚のそれよりも少ない傾向にあった。媒精後7日に出現した胚盤胞期胚の細胞数は80~100個が最も多かったが、媒精後8および9日に出現したそれらの細胞数は60から80個が最も多く、媒精後の時間が経過するにつれて細胞数は減少することが明かとなった。

3) 体外受精由来胚の新鮮胚移植による受胎率および子牛の生産成績

体外受精由来胚を新鮮胚で移植し、受胎率と子牛生産能力を生体内由来胚と比較した。体外受精由来胚を1個移植した場合の受胎率(52.3%)は生体内由来胚のそれ(62.2%)よりも低く、流産率は高かった。また体外受精由来胚を2個移植した場合の受胎率(54.7%)は生体内由来胚のそれ(64.2%)よりも低く、流産率は高く、双子率は低かった。体外受精由来胚移植による雄の単胎妊娠牛の妊娠期間(286.3 ± 5.3 日)は、生体内由来胚のそれ(284.7 ± 6.0 日)よりも1.6日長かったが有意差はなかった。雌の単胎妊娠牛の妊娠期間(283.3 ± 6.1 日)は、生体内由来胚のそれ(283.1 ± 4.9 日)とほぼ同様であった。産子の平均生時体重は、雄の双子を除き体外受精由来の方が、

生体内由来よりも大きかったが有意差はなかった。。体外受精由来胚からの産子では、体重が44kgを超えるものが、5頭認められたのに対し、生体内由来胚からの産子には見られなかった。

第3章 牛体外受精由来胚の凍結保存と融解後の体外発生率および移植後の受胎率と子牛の生産成績

1) 体外受精由来胚の凍結融解後の体外発生

体外受精由来胚の凍結融解後の生存率(100%)は生体内由来胚のそれ(85%)よりも高い傾向にあった。

2) 牛体外受精由来胚の凍結保存後の受胎率と子牛の生産成績

体外受精由来胚を凍結融解後に移植し、受胎率と子牛生産能力を生体内由来胚と比較した。体外受精由来胚を1個移植した場合の受胎率(46.6%)は生体内由来胚のそれ(54.8%)よりも低く、流産率は高かった。体外受精由来胚移植による雄の単胎妊娠牛の妊娠期間(284.9 ± 5.0 日)は、生体内由来胚のそれ(283.9 ± 6.1 日)よりも1.0日長く、雌の単胎妊娠牛の妊娠期間(285.8 ± 6.5 日)は、生体内由来胚のそれ(283.9 ± 6.1 日)よりも1.9日長かった。産子の平均生時体重は、体外受精由来からの産子の方が、生体内由来胚からの産子よりも大きかったが有意差はなかった。。体外受精由来胚からの産子では、雌において体重が36kgを超えるものが7頭認められたのに対し生体内由来胚からの産子には見られなかった。

第4章 牛体外受精由来胚のバイオブシー後の発生率および移植後の受胎率と子牛の生産成績

1) バイオブシーされた牛体外受精由来胚の体外での発生率

バイオブシーされた体外受精由来胚の生存率(91.7%)は、生体内由来胚のそれ(100%)より低い傾向にあった。

2) バイオブシーされた牛体外受精由来胚の受胎率と子牛の生産成績

バイオブシーされた体外受精由来胚の受胎率は40.0%，子牛生産率は100%であった。一方生体内由来胚の受胎率は37.5%，子牛生産率は100%であった。体外受精由来胚による受胎牛2頭のうち1頭は妊娠283日に30kgの雄，他の1頭は妊娠 292日

に25kgの雌を、生体内由来胚で受胎した3頭のうち2頭は妊娠286日および 294日にそれぞれ27および28kgの雄を、1頭は妊娠293日に33kgの雌の子牛を分娩した。

第5章 核移植におけるドナー細胞としての牛体外受精由来胚の品質評価

1) ドナー細胞として牛体外受精由来胚を用いたときの細胞融合率と体外発生率

体外受精由来胚をドナー細胞とした場合の細胞融合率は61.8%であり、生体内由来胚をドナー細胞とした場合(57.1%)と同様であった。また体外受精由来再構築胚の桑実期から胚盤胞期胚への発生率は5.5%であり、生体内由来再構築胚のそれ(10.1%)よりも低い傾向にあった。

2) ドナー細胞として牛体外受精由来胚を用いた再構築胚の受胎率と子牛生産成績

体外受精由来再構築胚の受胎率は33.3%であり、生体内由来再構築胚のそれ(38.5%)とほぼ同様であった。体外受精由来再構築胚で受胎した2頭のうち1頭(50.0%)が流産した。また生体内由来再構築胚により受胎した5頭のうち1頭が流産し、分娩事故で2頭が死亡した。妊娠期間が295日を超えるものが、両実験区で1頭ずつ認められた。生体内由来再構築胚からの産子に体重57kgの過大子が認められた。

第6章 牛体外受精由来産子の肉用牛としての生産能力および繁殖能力

体外受精由来産子の子牛市場成績、産肉能力および繁殖能力を検討した。子牛市場への上場日令は体外受精由来産子の雄(296.5 ± 29.5 日)および雌(310.0 ± 31.1 日)ともに生体内由来産子のそれら(312.2 ± 24.3 および 319.2 ± 26.7 日)よりも若く、平均体重は雄で小さく(302.4 ± 33.4 kgと 315.7 ± 27.5 kg)、雌で大きかった(279.1 ± 40.5 kgと 274.9 ± 26.4 kg)が有意な差ではなかった。日令体重は雄雌ともに体外受精由来胚で大きかった(雄： 1.03 ± 0.17 kgと 1.02 ± 0.15 kg、雌： 0.91 ± 0.18 kgと 0.87 ± 0.11 kg)が有意な差ではなかった。体外受精由来産子の肥育成績については枝肉重量や格付および脂肪交雑などにおいて人工授精由来産子のそれらと比較して遜色の無いものであった。体外受精由来の1頭の雌の産子に胚移植を行ったところ、移植後274日に体重25kgの雌子牛を分娩した。

第7章 総括

本研究は体外受精由来胚をフィールドで胚移植技術に応用するにあたり、移植した場合の受胎率や子牛の生産成績、凍結保存、バイオブシーならびに核移植等の胚操作により作出された胚を移植して得られる成績が、生体内由来胚から作出された胚の移植成績とどのように異なるのかを比較して、体外受精由来胚の品質を総合的に評価したものである。

体外受精由来胚を培養条件(添加血清の種類と濃度、浸透圧、授精に用いる種雄牛、共培養細胞の存在の有無)を変えて培養したところ、発生率は異なり、培養時間の違いによって胚の細胞数は異なったことから、胚の品質は培養条件に影響を受けることが明らかになった。体外受精由来新鮮胚の受胎率は生体内由来胚のそれと比較して約10%低く、流産率は高く、また2胚移植した場合の双子率は低かった。また受胎牛の妊娠期間は約1日長く、産子の体重は大きい傾向にあり、過大子が認められた。体外受精由来胚の凍結融解後の生存性は生体内由来胚より高い傾向にあったが、移植した場合の受胎率の低下の程度は生体内由来胚と同様であった。流産率ならびに受胎牛の妊娠期間、産子の生時体重は新鮮胚を移植した場合と同様であり、体外受精由来胚の耐凍性は生体内由来胚と同様であることが明らかになった。バイオブシー後の体外受精由来胚の生存性は生体内由来胚よりも低かったが有意な差ではなかった。移植した場合の受胎率と子牛の生産率は同様であり、体外受精由来胚のバイオブシーに対する抵抗性は生体内由来胚とほぼ同様である可能性が示された。体外受精由来胚をドナー細胞として核移植を行った場合、再構築胚の発生率は生体内由来胚に比べて低かった。移植した場合の受胎率は同様であったが、流産率は高かった。妊娠期間の長いものおよび体重の大きいものが認められたが、生体内由来胚でも同様であった。体外受精由来胚の核は生体内由来胚に比べて、品質の劣る可能性が示された。生産された産子の発育成績と産肉能力および繁殖能力は生体内由来胚からの産子および人工授精による産子と同様であった。

以上のことから、体外受精由来胚は生体内由来胚に比べて子牛の生産性に劣るが凍結保存やバイオブシー等の胚操作に対する抵抗性は生体内由来胚とほぼ同様であること、また核の品質に問題がある可能性が示され、今後これらの点を改善すべく体外培養系の見直しを図っていく必要があると思われた。

第2章の図表

表1 発生培地に添加する血清の種類が胚の発生率に及ぼす影響

| 試験区 | 供試卵数 | 発育胚数(%) | | | 受胎率 |
|-------|------|----------|----------|------------------------|-------------|
| | | 2細胞期胚 | 8細胞期胚 | 胚盤胞期胚 | |
| 発情期血清 | 103 | 59(57.3) | 28(27.2) | 23(22.3) ^a | 60.0(12/20) |
| 供卵牛血清 | 146 | 75(51.4) | 62(42.5) | 15(10.3) ^b | — |
| 牛胎児血清 | 98 | 51(52.0) | 17(17.3) | 10(10.2) ^b | — |
| 子牛血清 | 181 | 98(54.1) | 66(36.5) | 25(13.8) ^{ab} | 53.3(8/15) |

a, b間に有意差あり(P<0.01)

表2 発生培地に添加する血清の濃度が胚の発生率に及ぼす影響

| 試験区 | 供試卵数 | 発育胚数(%) | | |
|------|------|----------|----------|----------|
| | | 2細胞期胚 | 8細胞期胚 | 胚盤胞期胚 |
| 1%区 | 63 | 46(73.0) | 38(60.3) | 10(15.9) |
| 10%区 | 62 | 38(61.3) | 30(48.4) | 14(22.6) |

表3 体外発生培養における浸透圧の影響

| 試験区 (mOsm) | 実験回数 | 供試卵数 | 2細胞期 胚数(%) | 8細胞期 胚数(%) | 胚盤胞期胚数 | | |
|---------------|------|------|---------------|---------------|--------|----|-----------------------|
| | | | | | 7日 | 8日 | 計(%) |
| 240 | 2 | 109 | 52(47.7) | 22(20.2) | 4 | 2 | 6(5.5) ^a |
| 270 | 7 | 348 | 205(58.9) | 124(35.6) | 27 | 29 | 56(16.1) ^b |
| 300 | 7 | 334 | 217(65.0) | 151(45.2) | 30 | 28 | 58(17.4) ^b |

a, b間に有意差あり(P<0.05)

表4 種雄牛毎の胚の発生率

| 種雄牛 | 実験回数 | 供試卵数 | 2細胞期 胚数(%) | 胚盤胞期胚数 | | | 受胎率 |
|-----|------|------|---------------|--------|----|------------------------|-------------|
| | | | | 7日 | 8日 | 計(%) | |
| A | 6 | 628 | 435(69.3) | 46 | 46 | 92(14.6) ^a | 53.3(8/15) |
| B | 5 | 507 | 396(78.1) | 67 | 50 | 117(23.1) ^b | 47.2(17/36) |
| C | 6 | 292 | 141(48.3) | 23 | 14 | 37(12.7) ^a | 66.7(4/6) |

a, b間に有意差あり(P<0.01)

表5 胚と卵丘細胞層の接触の有無が胚の発生率に及ぼす影響

| 種雄牛 | 実験回数 | 胚盤胞期胚への発生率(%) | | |
|-----|------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| | | 共培養区 | | 非共培養区 |
| | | 接触区 | 非接触区 | |
| A | 5 | 24/65(36.9) ^a | 30/68(44.1) ^a | 6/65(9.2) ^b |
| B | 4 | 23/70(32.9) ^a | 18/70(25.7) ^a | 5/68(7.4) ^b |

a, b間に有意差あり(P<0.01)

表6 媒精後5日の体外受精由来胚および
人工授精後5日の生体内由来胚の細胞数

| 胚の種類 | 細胞数 |
|---------|-----------|
| 体外受精由来胚 | 28.2±5.5 |
| 生体内由来胚 | 33.9±15.2 |

表7 体外受精由来
胚盤胞期胚の細胞数

| 出現日 | 細胞数 |
|-----|----------|
| 7 | 106±39.9 |
| 8 | 101±51.5 |
| 9 | 94±28.9 |

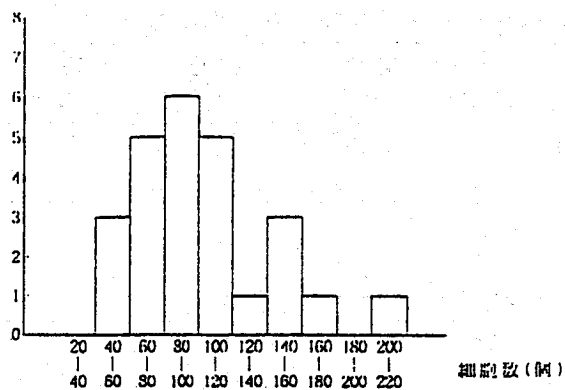


図1 7日目に出現した胚盤胞の細胞数

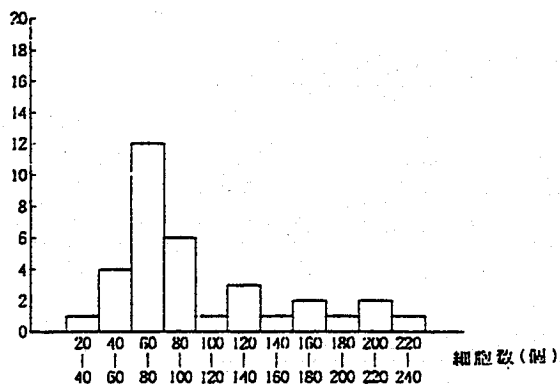


図2 8日目に出現した胚盤胞の細胞数

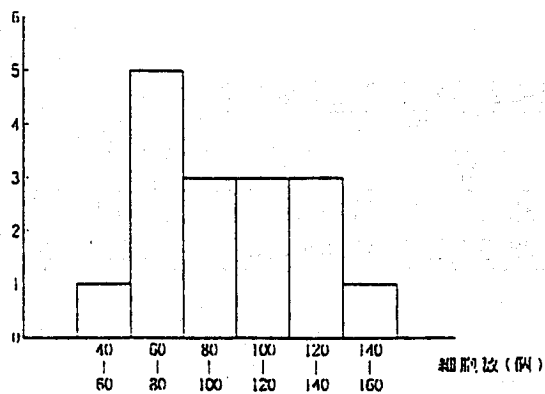


図3 9日目に出現した胚盤胞の細胞数

表8 新鮮1胚移植における受胎率と子牛生産率

| 胚の種類 | 移植 頭数 | 受胎 頭数(%) | 流産 頭数(%) | 事故 子牛数 | 生産率(%) |
|---------|----------|-------------|-------------|-----------|-------------|
| 体外受精由来胚 | 44 | 23(52.3) | 3(13.0) | 0 | 20/23(87.0) |
| 生体内由来胚 | 45 | 28(62.2) | 1(3.6) | 0 | 27/28(96.4) |

表9 新鮮2胚移植における受胎率と子牛生産率

| 胚の種類 | 移植 頭数 | 受胎 頭数(%) | 流産 頭数(%) | 双子 組数(%) | 事故 子牛数 | 生産率 (%) |
|---------|----------|-------------|-------------|-------------|-----------|--------------|
| 体外受精由来胚 | 53 | 29(54.7) | 7(24.1) | 8(27.6) | 7 | 23/29(79.3) |
| 生体内由来胚 | 53 | 34(64.2) | 4(11.8) | 12(35.3) | 3 | 39/34(115.0) |

表10 新鮮胚移植による受胎牛の妊娠期間(日)

| 胚の由来 | 単子 | | 双子 | | |
|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 雄 | 雌 | 雄・雄 | 雌・雌 | 雄・雌 |
| 体外受精由来胚 | 286.3±5.3 | 283.3±6.1 | 281.9±5.0 | 273.7±2.3 | 277.9±7.4 |
| 生体内由来胚 | 284.7±6.0 | 283.1±4.9 | 280.7±5.5 | 278.7±6.7 | 277.9±7.5 |

表11 新鮮胚移植による産子の性比

| 胚の由来 | 単子 | 双子 | | |
|---------|-------|-----|-----|-----|
| | 雄:雌 | 雄・雄 | 雌・雌 | 雄・雌 |
| 体外受精由来胚 | 56:53 | 8 | 16 | 12 |
| 生体内由来胚 | 73:65 | 9 | 27 | 11 |

表12 新鮮胚移植による産子の生時体重(kg)

| 胚の由来 | 単子 | | 同性双子 | | 異性双子 | |
|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 体外受精由来胚 | 32.2±7.2 | 27.8±5.5 | 27.3±5.9 | 23.3±4.2 | 27.4±5.5 | 26.3±5.2 |
| 生体内由来胚 | 28.5±5.7 | 26.0±3.8 | 28.4±5.9 | 20.7±3.2 | 24.8±3.2 | 21.9±3.6 |

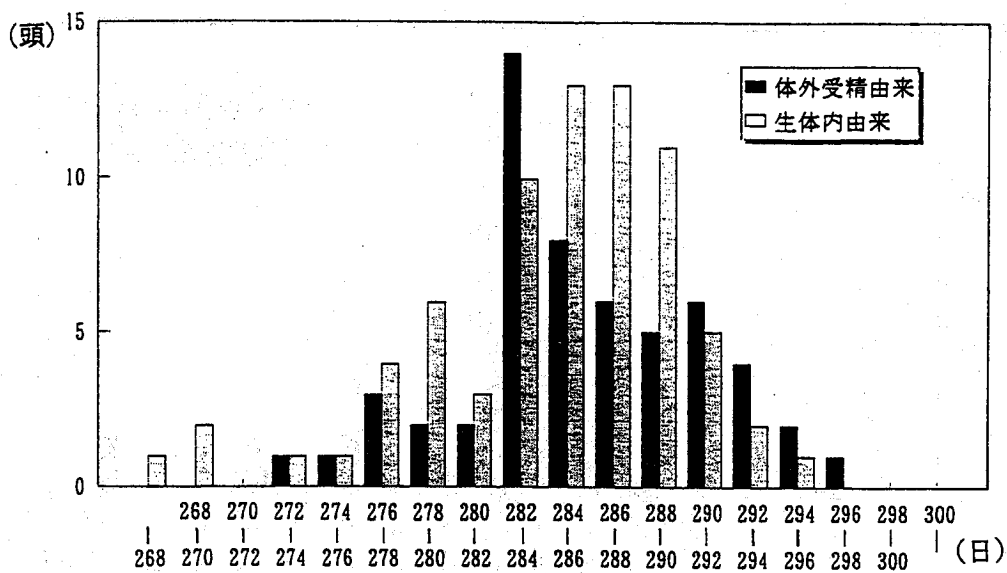


図5 新鮮胚移植による雄の単胎妊娠牛の妊娠期間

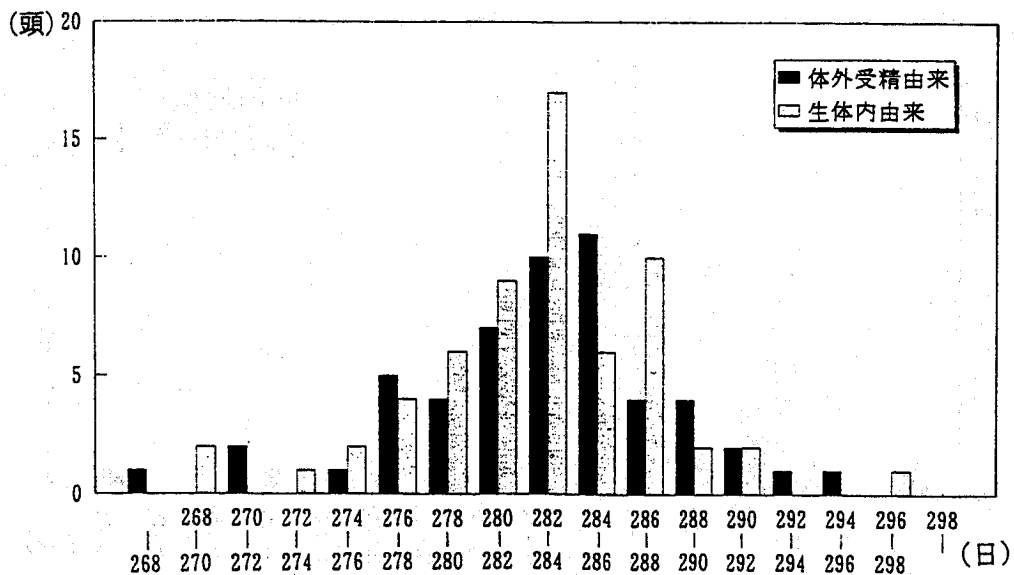


図6 新鮮胚移植による雌の単胎妊娠牛の妊娠期間

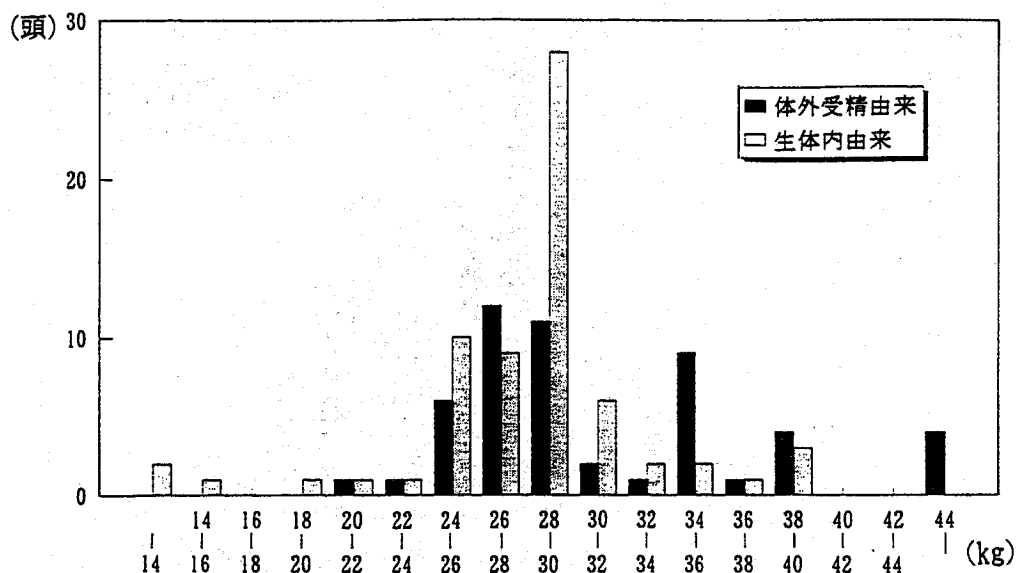


図7 新鮮胚移植により生産された雄産子の生時体重

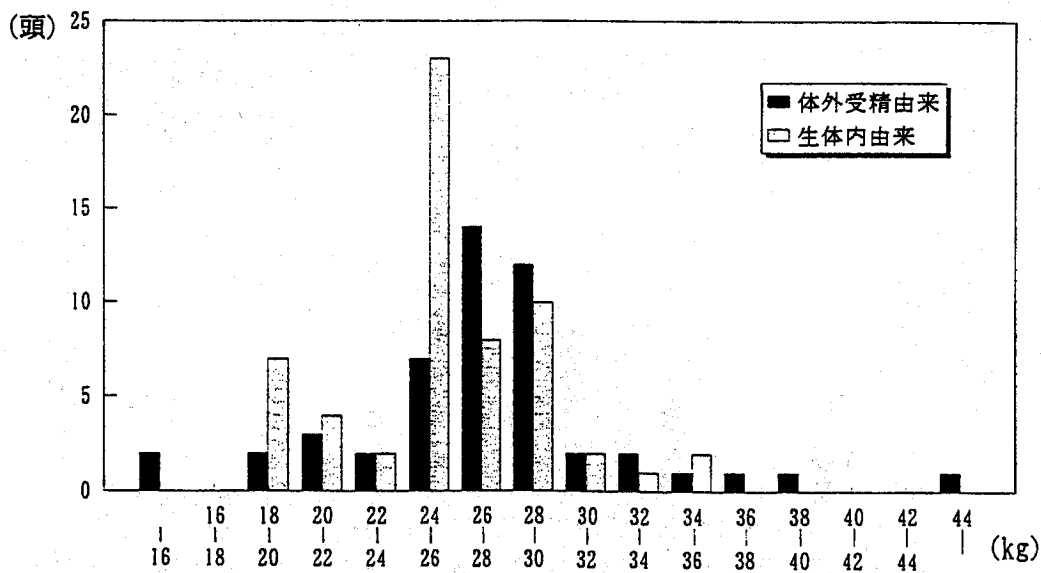


図8 新鮮胚移植により生産された雌産子の生時体重

第3章の表

表13 凍結融解胚移植における受胎率と子牛生産率

| 胚の種類 | 移植 頭数 | 受胎 頭数(%) | 流産 頭数(%) | 双子 組数 | 事故 子牛数 | 生産率(%) |
|---------|----------|-------------|-------------|----------|-----------|-------------|
| 体外受精由来胚 | 103 | 48(46.6) | 5(10.4) | 0 | 3 | 40/48(83.3) |
| 生体内由来胚 | 84 | 46(54.8) | 2(4.3) | 3 | 1 | 46/46(100) |

表14 凍結融解胚の移植による受胎牛の妊娠期間(日)

| 胚の由来 | 単子 | | 双子 | | |
|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 雄 | 雌 | 雄・雄 | 雌・雌 | 雄・雌 |
| 体外受精由来胚 | 284.9±5.0 | 285.8±6.5 | 277.3±2.1 | 273.7±2.3 | 281.8±7.8 |
| 生体内由来胚 | 283.9±6.1 | 283.9±6.1 | 278 | — | 279 |

表15 凍結融解胚の移植による産子の性比

| 胚の由来 | 単子 | 双子 | | | |
|---------|-------|-----|-----|-----|-----|
| | 雄:雌 | 雄・雄 | 雌・雌 | 雄・雌 | 雄・雌 |
| 体外受精由来胚 | 49:58 | 3 | : 5 | : 3 | |
| 生体内由来胚 | 50:39 | 1 | : 1 | : 0 | |

表16 凍結融解胚の移植による産子の生時体重(kg)

| 胚の由来 | 単子 | | 同性双子 | | 異性双子 | |
|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 体外受精由来胚 | 30.5±5.5 | 27.7±5.9 | 28.3±5.4 | 21.7±3.3 | 26.0±4.2 | 25.3±3.4 |
| 生体内由来胚 | 28.7±4.0 | 25.3±4.0 | 20.0 | — | 21.0 | 27.0 |

第4章の表

表17 バイオプシー後の胚の受胎率と子牛の生産率

| 胚の由来 | 移植頭数 | 受胎頭数(%) | 生産頭数(%) |
|---------|------|---------|---------|
| 体外受精由来胚 | 5 | 2(40.0) | 2(100) |
| 生体内由来胚 | 8 | 3(37.5) | 3(100) |

表18 バイオプシー後の胚移植による子牛の生産成績

| 胚の由来 | 性別 | 妊娠期間(日) | 体重(kg) |
|---------|-----|---------|--------|
| 体外受精由来胚 | 1 雄 | 283 | 30 |
| | 2 雌 | 292 | 25 |
| 生体内由来胚 | 1 雄 | 286 | 27 |
| | 2 雄 | 294 | 28 |
| | 3 雌 | 293 | 33 |

第5章の表

表19 ドナー細胞の種類が再構築胚の発生率に及ぼす影響

| ドナーの由来 | 供試卵数 | 分割卵数(%) | 8細胞期胚(%) | 桑実期胚～胚盤胞期胚(%) |
|---------|------|----------|----------|---------------|
| 体外受精由来胚 | 55 | 39(70.9) | 8(14.5) | 3(5.5) |
| 生体内由来胚 | 39 | 35(89.7) | 8(20.5) | 4(10.1) |

表20 ドナー細胞の種類が再構築胚の受胎率と生産率に及ぼす影響

| ドナーの由来 | 移植頭数 | 受胎頭数(%) | 流産頭数(%) | 子牛事故頭数 | 生産率 |
|---------|------|---------|---------|--------|-----------|
| 体外受精由来胚 | 6 | 2(33.3) | 1(50.0) | 0 | 50.0(1/2) |
| 生体内由来胚 | 13 | 5(38.5) | 1(20.0) | 2 | 40.0(2/5) |

表21 ドナー細胞の種類が受胎牛の
妊娠期間と子牛の生時体重に及ぼす影響

| ドナーの由来 | 性別 | 妊娠期間(日) | 体重(kg) |
|---------|-----|---------|--------|
| 体外受精由来胚 | 1 雄 | 295 | 37 |
| 生体内由来胚 | 1 雄 | 285 | — |
| | 2 雄 | 286 | 32 |
| | 3 雄 | 296 | 30 |
| | 4 雌 | 288 | 57 |

第6章の表

表22 子牛市場における去勢子牛の成績

| | 体外受精由来胚 | 生体内由来胚 | 人工授精由来 |
|------------|------------|------------|--------|
| 日令(日) | 296.5±29.5 | 312.2±24.3 | 305 |
| 体重(kg) | 302.4±33.4 | 315.7±27.5 | 308 |
| 日令体重(kg/日) | 1.03±0.17 | 1.02±0.15 | 1.01 |

表23 子牛市場における雌子牛の成績

| | 体外受精由来胚 | 生体内由来胚 | 人工授精由来 |
|------------|------------|------------|--------|
| 日令(日) | 310.0±31.1 | 319.0±26.7 | 315 |
| 体重(kg) | 279.1±40.5 | 274.9±26.4 | 276 |
| 日令体重(kg/日) | 0.91±0.18 | 0.87±0.11 | 0.88 |

表24 肥育された産子の枝肉成績

| 由来 | 性別 | 出荷 月齢 | 格付 | 枝肉重量 | BMS | ロース芯 面積(cm ²) | バラの 厚さ(cm) |
|------|----|----------|------|------|------|------------------------------|---------------|
| 体外受精 | 去勢 | 27 | A5 | 350 | 10 | 48 | 7.9 |
| " | " | 30 | A5 | 420 | 10 | — | — |
| " | 雌 | 28 | A5 | 407 | 10 | 54 | 7.6 |
| " | " | 32 | A5 | 408 | 12 | 58 | 8.7 |
| 人工授精 | | — | 4.0~ | 386~ | 6.1~ | 44.4~ | — |
| | | | 4.9 | 436 | 9.5 | 54.3 | |

論文審査の要旨

本論文は牛体外受精由来胚の品質に関し、移植による個体発生能と後代能力との関係で総合的に評価することにより、屠場卵巢由来体外受精胚は生体内受精胚の品質と比べ殆ど差が無いことから胚の品質評価基準を明確にした。

まず、牛初期胚の品質は生体内発生または体外発生由来かによって差が生じる。とくに体外受精胚では培養条件（添加血清の種類と濃度、浸透圧、精液、共培養細胞の有無など）によって著しく影響を受けること、すなわち、発生率、胚の細胞数などが減少した。次いで、生体内と体外受精の両胚の移植試験による受胎率での比較では体外受精新鮮胚は10%も低い、凍結体外受精胚では体外受精胚の生存性が高く、受胎率、正常分娩産子率などは両者間で全く差のないことを明らかにした。

更に、凍結や割断、核移植などの操作後の生体内、体外受精由来の両者胚の比較では発生率、生存性、受胎率などにおいて比較検討した結果、生存性については体外受精胚は生体内受精胚と比べ全く劣らなく、発生率が低い傾向であったが移植後の発生能や受胎率では差が認められなかった。

体外受精胚から生産された子牛の発育成績や産肉能力および繁殖能力などでは生体内受精胚のそれらに比べ殆ど差が無いことも明らかにした。

現在、肉用牛でのETは肉牛の増産を目的としており、種畜となっているものは殆ど無いが、体外受精由来胚の1頭の雌の産子を受卵牛として胚移植した成績では正常の妊娠期間で雌産子が得られており、全く異常の無いことを確認している。

本研究の成果は屠場卵巢由来体外受精胚は初期胚での品質評価では生体内受精胚のそれより多少、低いと判定されているが、後代能力までの総合評価では全く劣るものでないことから将来の家畜生産と改良や種畜生産における胚評価法として、ETの実用化を一層推進させるだけでなく、胎子と母体間で個体発生における相互関係や遺伝子発現の解析などの方法論としても応用できる。

よって博士（農学）の学位を授与されるに十分な資格があるものと判定された。